

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1933 - 1934 - N° 13

Travail du Laboratoire de Médecine Expérimentale et de Bactériologie

Professeur F. ARLOING

ET DU

Sanatorium de Sainte-Eugénie, Saint-Genis-Laval

Service du Docteur DUFOURT

Les MILIEUX et les TECHNIQUES de LÖWENSTEIN de 1931 à 1933

Leur intérêt Clinique et Bactériologique
dans la Tuberculose

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MEDECINE et de PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 8 Novembre 1933

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

MARC LEMOINE

né le 1^{er} Juin 1909, à Versailles (Seine-et-Oise)

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

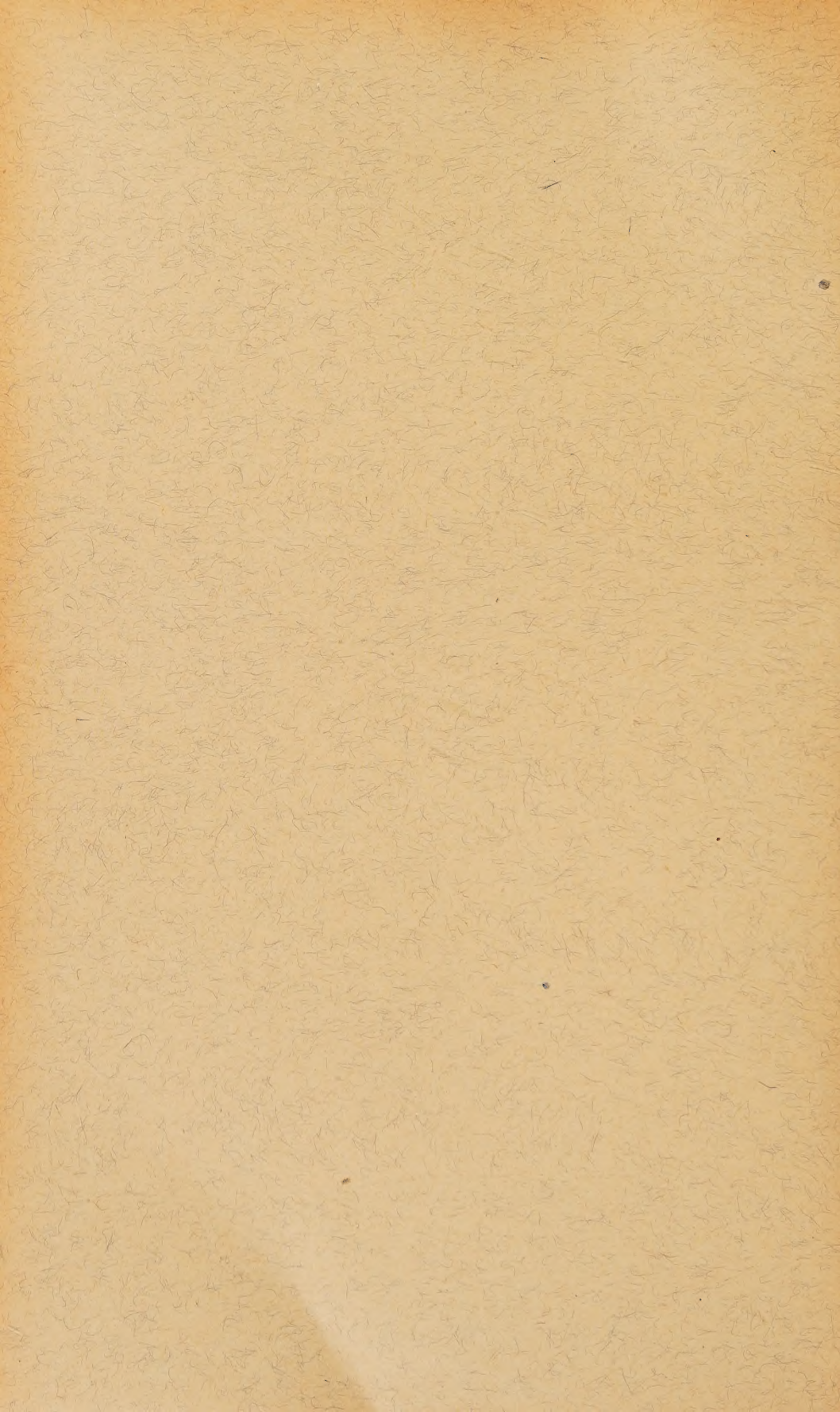
Diplômé de Bactériologie



IMPRIMERIE INTERSYNDICALE
LYONNAISE

46, Rue de l'Université, 46
LYON

1933



**Les Milieux et les Techniques
de Löwenstein
de 1931 à 1933**

**Leur intérêt Clinique
et Bactériologique
dans la Tuberculose**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1933 - 1934 - N° 13

Travail du Laboratoire de Médecine Expérimentale et de Bactériologie
Professeur F. ARLOING

ET DU

Sanatorium de Sainte-Eugénie, Saint-Genis-Laval
Service du Docteur DUFOURT

Les MILIEUX et les TECHNIQUES
de LÖWENSTEIN
de 1931 à 1933

Leur intérêt Clinique et Bactériologique
dans la Tuberculose

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MEDECINE et de PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 8 Novembre 1933

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

MARC LEMOINE

né le 1^{er} Juin 1909, à Versailles (Seine-et-Oise)

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Diplômé de Bactériologie



IMPRIMERIE INTERSYNDICALE
LYONNAISE

46, Rue de l'Université, 46
LYON

1933

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ.
Doyen	M. J. LEPINE.
Assesseur	M. A. MOREL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM CAZENEUVE, ROQUE, LANNOIS, HUGOUNENQ, ROCHET, BARRAL, ROLLET, DOYON

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. PIC
Cliniques chirurgicales	PAVIOT
Clinique obstétricale et Accouchements	TIXIER
Clinique ophtalmologique	BERARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	VORON
Clinique neurologique et psychiatrique	BONNET
Clinique des maladies des enfants	NICOLAS
Clinique des maladies des femmes	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURIQUAND
Clinique des maladies des voies urinaires	VILLARD
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie	COLLET
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	GAYET
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	NOVE-JOSSERAUD
Chimie biologique et médicale	COURMONT
Chimie organique et Toxicologie	GLUZET
Matière médicale et Botanique	FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL
Anatomie	MANCEAU
Histologie	GUIART
Physiologie	LATARJET
Pathologie externe	POLICARD
Pathologie interne	HERMANN
Pathologie et Thérapeutiques générales	LERICHE
Anatomie pathologique	FROMENT
Chirurgie opératoire	CADE
Médecine expérimentale et comparée, et bactériologie	FAVRE
Médecine légale	PATEL
Hygiène	ARLOING (F.)
Thérapeutique	Etienne MARTIN
Pharmacie et Pharmacologie	ROCHAIX
Hydrologie thérapeutique et climatologie	SAVY
	LEULIER
	PIERY

PROFESSEUR TITULAIRE SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Propédeutique de gynécologie	MM. CONDAMIN
Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale.....	THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie.....	NOEL

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Chirurgie expérimentale	MM. TAVERNIER
Stomatologie	PONT

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
MAZEL	WERTHEIMER	EPARVIER	CREYSSSEL
DUMAS	GATE	GUILLEMINET	DE ROUGEMONT
DUFOURT	DECHAUME	MORENAS	PAUPERT-RAVAUD
DEVIC	BERNHEIM	REBATTU	PIGEAUD
GABRIELLE	POLLOSSON	REVOL	PONTHUS
MARTIN (Joseph)	CHAMBON	ENSELME	
ROCHET (Ph.)	CIBERT	SEDALLIAN	

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. ARLOING, *Président* ; CADE, *Assesseur* ;

MM. DUFOURT et SÉDALLIAN, *Agrégés*

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans ses dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

Mort pour la France.

A MA MÈRE

Comme son amour maternel, sa bonté fut infinie. Nous lui dédions notre thèse en remerciement de tous les sacrifices qu'elle fit pour nous ; qu'elle accepte ce bien faible témoignage de notre reconnaissance.

A MON CHER FRÈRE

A MES GRANDS-PARENTS

A MON BEAU-PÈRE

MEIS ET AMICIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. DUFOURT

Médecin des Hôpitaux.

Chevalier de la Légion d'honneur.

Au moment où nous arrivons au terme de nos années d'études, nous tenons à remercier tous ceux qui, nous aidant de leur expérience et nous soutenant de leur amitié, ont été les artisans de notre réussite ; qu'ils restent persuadés de notre gratitude et de notre souvenir.

Que Monsieur le Docteur Dufourt veuille bien agréer ici l'hommage de notre reconnaissance, pour l'honneur qu'il nous a fait et pour la confiance qu'il a mise en nous lorsqu'il nous a chargé de ce travail.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR F. ARLOING

*Professeur de Bactériologie et de Médecine Expérimentale
à la Faculté de Médecine de Lyon.
Chevalier de la Légion d'honneur.*

Il nous a fait le grand honneur de
présider notre thèse et fut pour nous
un maître bienveillant. Il nous a per-
mis l'accès de son laboratoire et pro-
curé les moyens matériels de réaliser
notre travail. Nous lui en resterons
toujours reconnaissant.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CADE

Médecin des Hôpitaux.

*Professeur de Pathologie Générale
à la Faculté de Médecine de Lyon.*

Chevalier de la Légion d'honneur.

Il a accepté de faire partie de notre jury de thèse, qu'il veuille bien agréer nos hommages respectueux et tous nos remerciements.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ SEDALLIAN

Chevalier de la Légion d'honneur.

Respectueux hommages.

A NOS MAÎTRES CIVILS ET MILITAIRES

GENERALITES

Lœwenstein, depuis 1905, s'est efforcé de découvrir un moyen de diagnostiquer précocement la tuberculose. Trouvant que l'inoculation au cobaye ne fournissait que des renseignements trop tardifs et trop inconstants, il a estimé que la culture du sang sur un milieu spécial permettrait en quelques jours et avec une précision plus grande d'obtenir un diagnostic ferme lorsque le tableau clinique ne le permettrait pas.

De là il passa à l'idée que, si la bacillémie était antérieure à l'éclosion des symptômes, il lui serait peut-être possible de pronostiquer plus ou moins longtemps à l'avance quels seraient, parmi les gens qui auraient recours à lui, ceux qui risquaient de devenir tuberculeux. On instituerait alors un traitement préventif qui durerait jusqu'à négativité de la culture.

Depuis lors, Lœwenstein poursuivit ses recherches sans relâche et, selon lui, sa méthode atteignit une perfection telle, qu'elle semblait bien, en effet, être devenue apte à rendre les services auxquels il la destinait. Celle-ci présentait un tel intérêt social que beaucoup de cliniciens et de bactériologues voulurent, à leur tour, en connaître le maniement.

C'est alors que commencèrent les controverses qui durent encore à l'heure actuelle, les uns la trouvant défectueuse, les autres obtenant avec elle des résultats admirables. Les statistiques varièrent de 0 à 100 % ; les opinions les plus diverses s'établirent et les positions prises ne changèrent plus, car ceux qui primitivement avaient échoué dans leurs recherches, tout comme ceux qui dès le début découvraient du bacille de Koch chez tout le monde, continuèrent, soit à n'en trouver jamais, soit à en trouver tout le temps.

Sans aucune idée préconçue nous avons désiré connaître cette énigme et voir s'il ne nous était pas possible, à l'instar de JONTOFSOHN, HÜTTIG, SAENZ, BESSAU et FERRARI, de prendre position en un juste milieu.

Après un an et demi de pratique consciencieuse de cette méthode si discutée, nous pensons pouvoir exprimer une opinion.

Nous n'avons pas eu recours, comme certains, à des centaines d'ensemencements de sang. Ce qui importe n'est pas le grand nombre, mais l'étude précise, rigoureuse d'un nombre modéré d'examen, pratiqués après une revision et une critique expérimentale bien établie des techniques proposées.

Nous basant sur 67 cas de tuberculose pulmonaire, 1 cas d'adénopathie trachéo-bronchique, 2 cas de rhumatisme chronique, 12 cas de pleurésie séro-fibrineuse, 1 tuberculose rénale ainsi que sur toute une série d'expériences variées pour lesquelles 87 prises de sang furent utilisées, nous allons, appuyé par les maîtres qui ont contrôlé et vérifié ces recherches, exposer ce que nous pensons de la méthode de Löwenstein.

II

PLAN

Avant d'entrer dans les détails de notre sujet, il nous paraît nécessaire de résumer brièvement quel fut le plan qui présida à l'organisation de ce travail.

a) Nous avons cherché en premier lieu :

A vérifier expérimentalement la méthode en mettant en culture du sang souillé par nos soins de bacilles de Koch. Nous avons ainsi créé des bacillemies expérimentales et nous avons essayé d'en obtenir des cultures.

b) En second lieu nous avons recherché, sur des malades, tuberculeux avérés, cavitaires pour la plupart, si l'on pouvait déceler une bacillemie ;

c) En troisième lieu, nous avons étudié la possibilité de se servir du milieu de Lœwenstein pour rechercher le bacille de Koch dans les humeurs organiques autres que le sang.

Notre collègue, le Docteur LUMARET, ayant pris pour thèse, à la même époque, la recherche du bacille dans le sang des malades atteints de rhumatisme articulaire aigu, nous avons laissé complètement de côté cette

partie de la question, estimant qu'il valait mieux nous partager le sujet de façon à pouvoir mieux l'approfondir.

Comme les deux thèses se complètent, nous prions donc de se reporter à l'ouvrage du docteur Lumaret, pour tout ce qui concerne le Rhumatisme articulaire aigu.

III

DES DIFFERENTES METHODES DE LÆWENSTEIN

Lorsque Læwenstein, dans ses nombreuses publications parle de « sa méthode », une question se pose *a priori* : de laquelle s'agit-il ?

En effet, essentiellement mouvante, elle a été l'objet de modifications répétées portant aussi bien sur le milieu lui-même que sur les manipulations imprimées au sang.

PREMIÈRE VERSION

Le 13 juin 1930, dans un article du « Deutsche Medizinische Wochenschrift », Læwenstein publiait une première formule de son milieu de culture ainsi qu'une technique pour la préparation des prises de sang.

Ce milieu voisin de celui de Pétragnani était caractérisé par le remplacement de la peptone par de l'asparagine comme source d'azote. Synthétique pour sa plus grande part, il permettait un dosage plus précis et par conséquent la possibilité d'obtenir des résultats moins sujets à caution.

Sa constitution était la suivante :

Phosphate dipotassique	0,40 %
Sulfate de Magnésium	0,04 %
Citrate de Magnesie	0,10 %
Asparagine	0,60 %
Glycérine	2 » %
Eau distillée	Q. S. pour 100

A 120 cc. de cette solution, on ajoute 6 gr. de fécule de pommes de terre et on porte pendant deux heures le mélange au bain-marie à 100°.

On laisse ensuite retomber la température à 50° et on adjoint 4 œufs préalablement stérilisés par lavage de la coquille au savon tiède et à l'alcool absolu.

10 cc. de solution à 2 % de rouge congo ou de vert malachite sont versés dans la masse et après avoir agité le tout fortement avec des perles de verre stérilisées, on filtre à travers 2 ou 3 épaisseurs de gaze également stérile.

On garnit les tubes à culture et on stérilise de la même façon que pour le sérum de cheval coagulé. Le milieu ainsi constitué est solide, vert-bleu ou rouge, gras et luisant, légèrement élastique. On le porte à l'étuve pendant 48 heures pour vérifier sa stérilité. Il n'est utilisable que deux semaines. Après ce temps, il doit être rejeté comme impropre à tout usage.

Le milieu étant prêt à servir, on recueille le sang :

Dans une veine du bras on fait une ponction de 10 cc. au moins, on maintient liquide par du citrate de soude à 10 %,

Après avoir brassé avec de l'acide acétique à 5%, on centrifuge d'une façon aseptique et on sépare le plasma du culot. Seul ce dernier présente de l'intérêt, car il doit contenir les bacilles. On ajoute alors de l'eau distillée, on agite et lorsque tout est intimement mélangé, on centrifuge de nouveau. L'hémoglobine se trouve ainsi séparée du stroma globulaire. On recommence plusieurs fois ce temps qui aurait une importance primordiale, car l'hémoglobine, source d'oxygène, empêcherait, dit Lœwenstein, tout départ de culture du bacille tuberculeux. (1)

Primitivement rouge, le culot prend peu à peu une teinte se rapprochant du beige. Lorsque celle-ci est atteinte, on peut ensemer une partie de ce que l'on a obtenu, à l'aide d'une pipette en verre.

Le reste est repris et traité par l'acide sulfurique à 15 %. On centrifuge ensuite et on lave jusqu'à ce que toute trace d'acide ait disparu. On finit d'ensemencer.

Telle fut la première méthode de Lœwenstein. Nous l'avons employée, car nous avons suivi fidèlement les fluctuations successives et répétées que lui-même fit subir et au milieu et à la technique.

En ce qui concerne celle dont nous venons de parler, on n'a certainement pas manqué, à l'exposé que nous en avons fait, de remarquer l'imprécision particulièrement fâcheuse en ce qui concerne les doses des acides, la vitesse et la durée des centrifugations,

(1) Cette affirmation paraît excessive et a été récemment contestée.

DEUXIÈME VERSION

Dès mars 1931, dans la « Münchener Medizinische Klinik », N° 12, on trouve une deuxième variante de la Méthode. Dans celle-ci, le milieu salin a varié quant aux pourcentages :

Phosphate dipotassique ..	0,1 %	au lieu de 0,4
Sulfate de Magnésie	0,1 %	au lieu de 0,04
Citrate de Magnésie ...	0,1 %	
Asparagine	0,6 %	
Glycérine	6 %	au lieu de 2 %
Eau distillée	Q. S.	pour 100

A 150 gr. de la solution, on ajoute 6 gr. de fécule et 12 gr. de glycérine. On fait cuire le tout en remuant continuellement pendant un quart d'heure et on laisse au bain-marie pendant une heure et demie.

4 œufs et le jaune d'un cinquième sont incorporés à la solution précédente.

On brasse avec des perles de verre et le milieu étant devenu homogène, on ajoute cinq centimètres cubes de rouge ou de vert à 2 %.

On passe, on verse dans les tubes et on pasteurise pendant deux jours consécutifs, deux heures chaque jour à 80-85°.

On porte à l'étuve à 37°, pour épreuve de la stérilité.

Il existe de même, dans la préparation du sang, de notables différences.

On prend 8 à 10 cc. de sang veineux au moyen d'une seringue citratée.

On hémolyse le tout pendant cinq minutes par 10 cc. d'acide acétique 5 % (dose précisée).

On centrifuge longtemps et rapidement (sans autre indication).

On lave avec de l'eau distillée le culot de centrifugation jusqu'à ce que la teinte claire soit obtenue.

On ensemente alors à la pipette et on paraffine les tubes. On les porte à l'étuve, à plat pour que la couche de sang s'étale bien.

S'il y a doute sur la parfaite stérilité des manipulations qui viennent d'être faites, on passe au temps sulfurique avant de garnir les tubes.

TROISIÈME VERSION

Dans le N° 8 de la « Medizinische Klinik » de 1932 on voit encore les données changer. Lœwenstein modifie un peu son milieu.

La solution d'Asparagine est devenue la suivante:

Phosphate bipotassique	0,1 %
Sulfate de Magnésie	0,1 %
Citrate de Magnésie	0,1 %
Asparagine	0,6 %
Glycérine	12 %
Eau distillée	Q. S. pour 100

Pour la préparation du sang, il faut enregistrer une nouvelle variante, celle-ci importante.

On prend, comme plus haut, 10 cc. de sang.

On ajoute 50 cc. d'eau distillée. On brasse dans une éprouvette à parois épaisses et l'hémolyse une fois atteinte, on centrifuge.

On décante le liquide, on ajoute de nouveau de l'eau, on brasse ; nouvelle centrifugation.

Le temps acétique a disparu, remplacé qu'il est par le laquage.

QUATRIÈME VERSION

Pour en finir, en 1933, dans un article des « Annales de l'Institut Pasteur » (février N° 2), après s'être livré à des considérations assez peu flatteuses pour les expérimentateurs qui n'obtenaient pas des résultats superposables aux siens, Lœwenstein publie sa toute dernière variation :

Phosphate dipotassique	1 gr.
Citrate de soude	1 gr.
Sulfate de Magnésie pur et cristallisé	1 gr.
Asparagine	3 gr.
(au lieu de 6 gr.)	
Glycérine à 30° Bé	60 cc.
Eau distillée	Q. S. pour 1.000

On stérilise pendant deux heures à la vapeur d'eau fluente et pour 600 cc. de solution on prépare :

10 cc. de solution à 50 % de fécule de pommes de terre ;

60 cc. de jus pressé de tomates.

On stérilise par deux heures de bain-marie.

Puis on mélange les deux solutions et on laisse refroidir à 50°. On ajoute alors 16 œufs et 4 jaunes, ainsi que 20 cc. du colorant.

On agite fortement le mélange et on filtre sur quatre couches de gaze stérile.

Répartir en tubes que l'on chauffe entre 75-80° dans de la vapeur d'eau pendant 2 heures. On porte ensuite à l'étuve obscure.

On recommence le lendemain et on capuchonne à la cellulose. Il faut maintenir en outre les tubes à l'obscurité et les utiliser dans les deux semaines qui suivent.

Pour le sang, on prélève dans une seringue additionnée de 3/10 de cc. de solution à 10 % de citrate de soude.

Laisser déposer après avoir bien agité.

Enlever le plasma à la pipette à boule.

Ajouter de l'eau distillée et remuer fortement.

Transvaser dans les centrifugeurs.

Rincer le tube à prise de sang avec 3 cc. d'eau.

Centrifuger 20 minutes à raison de 1.500 tours-minutes.

Décanter sans toucher au sédiment.

Laver, agiter, centrifuger une ou deux fois encore pendant 15 minutes.

Enlever les caillots non hémolysés.

Ajouter 1 cc. d'eau distillée et ensemercer avec une pipette de 2 mm. de diamètre.

Condition indispensable : il faut un travail absolument stérile, la présence d'un microbe quelconque empêchant le bacille de Koch de se développer.

COMMENTAIRES

Nous ne parlerons que pour mémoire de la seringue préconisée par Lœwenstein, qui permet d'effectuer la prise de sang d'une façon rigoureusement sté-

rile, un médecin étant généralement entraîné à faire des prises de sang pour hémoculture, sans concours d'appareils spéciaux. D'ailleurs les plus grands dangers de contamination ne résident pas là, mais plutôt au moment où l'on opère toutes les manipulations de laboratoire.

Il importe de noter que Lœwenstein laisse dans l'obscurité la plus complète un des côtés les plus importants de la question, à savoir de quelle manière il s'y prend pour ne jamais avoir de déchets. Cette omission de l'auteur est, à notre avis, une grosse cause des échecs et une première explication de cette variabilité de la statistique qui, comme nous le verrons plus loin, va de 0 à 100 % de résultats positifs.

Nous venons d'exposer quatre techniques dont Lœwenstein s'est servi. Il semble en exister quelques autres, si l'on en croit les publications de certains auteurs, mais le temps nous ayant manqué pour les expérimenter, nous n'en parlerons pas.

Pour nous résumer, voici en raccourci ce qui fait différer les quatre méthodes que nous avons utilisées.

1° En ce qui concerne *le milieu* :

Sulfate de magnésie N° 1	0,04 %
N°s 2-3-4	0,1 %
Phosphate de potasse N° 1	0,4 %
N°s 2-3-4	0,1 %

Le Citrate de Magnésie se trouve dans les 3 premières méthodes, le Citrate de Soude le remplace dans la 4°.

Glycérine	N° 1		2 %
	N° 2		6 % + 12 gr.
	N° 3		12 %
	N° 4		6 %

Colorant :

N° 1		10 cc. de la solution à 2 %
N° 2 et 3		5 cc.
N° 4		20 cc.

Jus de tomates seulement dans le N° 4.

Œufs :

- 4 œufs dans le N° 1 et pour 120 cc. de solution d'asparagine.
- 4 œufs et 1 jaune dans les N° 2-3-4 pour 150 cc. de solution.

Temps de préparation. — Cuisson du mélange :

- N° 1 : 2 heures au bain-marie à 100° ;
- N° 2-3-4 : 1/4 heure en agitant, puis seul 1 heure et demie.

2° En ce qui concerne la *préparation du sang* :

- N° 1-2-3, on centrifuge le sang pour le séparer du sérum.
- N° 4 : on sépare par stratification.

Centrifugation :

- rapides : N° 1-2-3 ;
- lentes : N° 4.

Temps acides :

N^{os} 1 et 2 : acétique et sulfurique ;

N^o 3 : sulfurique facultatif ;

N^o 4 : plus de temps acides. Ceux-ci sont
remplacés par le laquage.

Il est donc possible de se rendre compte de ce fait
que presque tous les facteurs varient de la méthode
n^o 1 à la méthode N^o 4.

Ces perpétuels changements rendent la lecture et
la critique des travaux publiés sur cette question,
particulièrement difficiles, les résultats variant avec
chaque technique du fait de leur valeur différente.

IV

VERIFICATION EXPERIMENTALE DU MILIEU DE LÖEWENSTEIN

Dans ce chapitre, nous allons maintenant étudier les quatre variétés de milieu qui nous ont servi au cours de nos recherches. Nous les envisagerons dans l'ordre chronologique de leur parution.

MILIEU N° 1

Le 3 février 1932, dans une première série d'expériences, nous avonsensemencé du bacille provenant de cultures homogènes de S. Arloing et P. Courmont, à des dilutions allant de 1 goutte par 10 cc. de sérum physiologique à 1 millionième de goutte. Dans chaque tube on introduisit 3 cc. de ce mélange.

Le 17 février 1932 apparaît dans un tube unité un point brillant semblable à un minuscule éclat de verre, il se transforme rapidement en une petite culture

ronde, blanc-jaunâtre, bientôt suivie de beaucoup d'autres.

Le 20 février, tous les tubes de une goutte à 1/200^e de goutte présentent de ces points brillants.

Au 1^{er} mars, il existe des cultures rocailleuses, crevassées, étalées en nappes inégales, non seulement à la surface du milieu, mais encore sur les parois (Bin-gold et Spier).

A l'examen microscopique, on voit des bacilles acido-alcool résistants typiques à l'état pur.

Du deux centième au cinq centième de goutte, il fallut de 1 à 2 mois pour obtenir quelque chose et le dernier tube positif apparut vers la fin d'août 1932.

Au-dessous de ce taux, nous n'avons jamais rien constaté, ni bacilles de Koch, ni microbes banaux. Tous les examens microscopiques faits sur le résultat du grattage de la surface du milieu sont toujours restés négatifs.

Dès que la série dont nous venons de parler fut en train, nous en fîmes une autre. Cette fois, avec du sang souillé par nos soins de Bacilles de Koch provenant de cultures sur pomme de terre.

Pour une même gamme de dilution, le développement se produisit beaucoup plus lentement et le taux limite fut le millième de goutte, avec présence de trous, c'est-à-dire que nous avions certains tubes (les 1 pour 750) qui restaient négatifs alors que les 1 pour 500 et les 1 pour 1.000 devenaient positifs.

Nous instituâmes alors un troisième groupe d'expériences avec du sang humain souillé par du Bacille

de Koch provenant du broyage d'organes de cobayes morts tuberculeux. La quantité de microbes en suspension dans du sérum physiologique, avait été étalonnée en comparant le nombre de bacilles contenus par champ microscopique dans cette dilution et dans celle de bacilles homogènes utilisée dans notre premier contrôle.

Le taux limite fut alors le deux centième, avec présence de trous dans la série, comme plus haut.

Pour nous résumer, dans la première série, résultats positifs jusqu'aux cinq cents millièmes de gouttes.

Dans la seconde série, jusqu'au millième.

Dans la troisième série, jusqu'au deux millième.

Alors qu'avec l'ensemencement direct, on avait obtenu un excellent résultat, le taux se trouvait considérablement abaissé dès que l'on se servait de la technique de préparation du sang.

MILIEU N° 2

Les résultats furent semblables. Mêmes taux avec des trous qui, cependant, furent moins nets, c'est-à-dire que tous les tubes d'un même groupe ne manquaient pas, mais sur les 3 que nous faisions, 2 restaient négatifs tandis que le 3^e donnait une colonie malingre.

MILIEU N° 3

Avec l'ensemencement direct, on atteint le 1 pour 750.000.

Avec le bacille de souche cultivée sur pomme de terre, 1 pour 2.000.

Avec le bacille contenu dans les ganglions de cobaye, le millième, avec un seul tube négatif au 750°.

La durée moyenne d'apparition des colonies fut de 15 jours.

MILIEU N° 4

Avec l'ensemencement direct, les tubes au millionième de goutte deviennent positifs en une semaine.

Avec le sang contenant des Bacilles provenant d'une souche sur pomme de terre, on atteint le dix-millième de goutte en une moyenne de 22 jours.

Avec le sang contenant des bacilles venant d'organes broyés du cobaye, le deux-millième en 35 jours.

Nous tenons ici à faire toucher du doigt l'énorme différence qui persiste entre l'ensemencement direct en solution salée et celui du sang contenant du bacille de souche cultivée. La technique de deshémo-globinisation en est forcément responsable, ce qui nous donna de suite l'idée que le milieu devait être excellent mais que la technique méritait d'être encore travaillée.

Malgré cela, nous sommes passés à l'application clinique de la méthode, et, dans le Service du Docteur Dufourt, au Sanatorium de Saint-Genis-Laval, nous avons étudié 83 malades diverses, dont nous avons fait l'énumération au début de notre travail.

V

CONTAMINATION DES CULTURES PAR LES MICROBES BANAUX, NON ACIDO-RESISTANTS

Le milieu de Lœwenstein, quelqu'en soit la variété employée, manque absolument de sélectivité. On peut voir s'y développer une grande quantité de germes banaux. Parmi ces souillures, les plus fréquentes sont dues au bacillus subtilis, aux champignons et à un bacille chromogène rougeâtre.

Le Bacillus subtilis désagrège en 24 à 48 heures le milieu qui, primitivement solide, gras et luisant, semble exsuder et se craqueler. On voit ses fragments glisser et se tasser dans le fond du tube, si en manipulant, on incline celui-ci. Lorsque l'on débouche, il se répand une odeur fétide bien caractéristique.

Le bacille chromogène donne assez vite des plages chagrinées rougeâtres, sans produire de désagrégation.

Les champignons se développent d'une façon exhubérante envahissant le tube jusqu'au bouchon. Le milieu est complètement rongé en quatre à cinq jours.

En dehors de ces germes, on peut noter bien d'autres formes, cocci ou bâtonnets, mobiles ou non. Souvent, on obtient de très belles cultures qui, au grattage, atteignent facilement 4 cc. de volume.

Quelquefois, un tube à l'étuve depuis 60 à 90 jours semble rester stérile. Mais si on le débouche très aseptiquement pour râcler la surface du milieu, il arrive qu'au bout de 48 heures, il soit envahi par des germes qui préexistent à l'état latent.

Il semble bien que le milieu frais qui dégage de l'azote, le paraffinage des bouchons gênent le développement de certains germes qui ont contaminé le milieu lors de sa préparation ou qui ont été introduit avec le culot sanguin.

L'ouverture des tubes, en apportant de l'oxygène, provoque l'éclosion secondaire et la diffusion rapide de ces microbes.

VI

VALEUR ET SIGNIFICATION DES BACILLES ACIDO-RESISTANTS CONSTATES DANS UNE CULTURE

Il importe ici de bien faire remarquer qu'il ne suffit pas de déceler des bacilles acido-résistants dans les tubes de Lœwenstein pour affirmer qu'il s'agit de bacilles tuberculeux. Nous avons eu le constant souci de vérifier autant qu'il a été possible ces différents germes et notamment de contrôler leur action sur le cobaye.

On ne peut manquer d'être frappé, à la lecture des innombrables travaux qui ont vu le jour sur le sujet qui nous occupe, de l'indifférence avec laquelle est souvent traitée cette importante question, et du peu de vérification qui a été fait, à l'étranger surtout. Lœwenstein, dans ses publications, parle fort peu des contrôles sur le cobaye. Il semble n'en avoir exécuté qu'un nombre infime parmi les examens qui, il y a un an, dépassaient déjà dix mille.

Or, nous ne pouvons, avec MM. Arloing et Dufourt, considérer comme d'authentiques bacilles de Koch, des germes qui demeurent inoffensifs pour l'animal et n'arrivent pas à éveiller, même après des passages

successifs, l'allergie tuberculinique la plus discrète.

Dans 3 cas seulement, nous avons eu un ensemencement sûrement positif. La culture était abondante, elle tuberculisait le cobaye avec les lésions classiques et elle suscitait l'allergie tuberculinique chez cet animal.

Dans un autre cas, nous avons isolé sur Lœwenstein un bacille à pigments jaunes très accusés. Ce germe donnait parfois, sur pomme de terre, des colonies rougeâtres. Il a été au début assez peu acido-résistant et la première culture d'isolement renfermait plus de bacilles cyanophiles que d'acido-résistants. Les cultures étaient épaisses, plissées, un peu grasses. Sur bouillon glycérimé, elles donnaient un voile épais. Assez souvent nous avons vu des formes atypiques ovoïdes ou rondes avec deux appendices étirés en bacilles, avec pôles opposés. Le polymorphisme de ce germe, la rapidité de son développement (6 jours), son absence de pouvoir pathogène, sa pigmentation, ses variations dans l'acido-résistance, son impuissance à susciter l'allergie tuberculinique, permettent, sans aucun doute possible, de dire qu'il ne s'agissait pas d'un bacille de Koch.

Dans tous les autres cas restants, nous n'avons trouvé sur Lœwenstein que ce qu'il est convenu d'appeler des « microcultures » de bacilles acido-résistants. Rien n'était visible à l'œil nu, même après un séjour à l'étuve de plusieurs mois. En râclant la surface du milieu et en colorant le frottis au Ziehl, on apercevait cependant d'assz nombreux bacilles offrant les caractères suivants : bâtonnets assez courts, colorés pres-

que toujours de façon homogène et intense par le Ziehl, très acido-alcool résistants, affectant parfois un aspect presque ponctiforme, ou bien plus gros à l'une extrémité qu'à l'autre et ressemblant à une courte virgule.

Les bacilles acido-résistants de microculture ont été rencontrés 22 fois sur 67 hémocultures de tuberculeux pulmonaires.

Que signifient ces bacilles ?

Tout d'abord nous en avons un certain nombre qui ne sont sûrement pas des bacilles tuberculeux. Dans 8 cas, nous avons trouvé, en râclant la surface du milieu de Lœwenstein des germes courts, souvent en forme de vibrion ou de virgules ou bien globuleux avec les deux extrémités éfilées. Jamais nous n'avons vu le virus tuberculeux revêtir ces formes. Inoculés au cobaye, ces germes ont été retrouvés dans les ganglions même au bout de 5 ou 6 mois. Ils n'y avaient déterminé aucune lésion. Les cobayes ne réagissaient pas à la tuberculine. Par passages successifs, aucune modification de virulence n'a apparu.

Soupçonnant une contamination accidentelle effectuée dans le local où l'on faisait les centrifugations et les manipulations, M. Dufourt a cherché s'il n'y aurait pas les mêmes germes dans les poussières de laboratoires. Or, ils ont été rencontrés, exactement comparables à l'examen direct, et quant au comportement sur le cobaye :

1° Sur les lames abandonnées depuis longtemps à la poussière ;

2° Dans l'eau qui séjournait dans les cristallisoirs ;

3° Sur le bec du bouchon en verre des flacons de colorants.

La preuve de leur origine était établie et nous avons ultérieurement transporté dans un autre centre de recherches tout notre outillage. Pas une seule fois depuis lors nous n'avons eu affaire à ces acido-résistants.

Il y a là un fait typique, plein d'enseignement et qui doit engager à une singulière prudence dans l'interprétation de certains résultats.

Pour les cas restants, les germes obtenus en micro-culture ressemblaient morphologiquement au bacille tuberculeux.

Mais ces germes inoculés en grande quantité à des cobayes n'ont jamais fait apparaître chez eux, même par réinoculations successives, des lésions tuberculeuses.

Jamais nous n'avons obtenu de réactions tuberculiques nettes chez ces animaux.

Quelquefois, l'intra-dermo-réaction nous a paru très faiblement positive, mais si peu que nous n'oserions affirmer qu'elle l'ait été véritablement, en tant que réaction spécifique.

A diverses reprises nous avons trouvé associés à ces acido-résistants des bacilles de plus gros volume qu'eux et qui ne prenant pas le Ziehl, restaient colorés par le bleu de méthylène. S'agit-il de formes cyano-philés du bacille tuberculeux ? Ou bien s'agit-il d'impuretés dues à une contamination accidentelle du milieu de culture ? Par repiquages sur d'autres milieux de Lœwenstein, nous n'avons pas vu se multiplier les

formes acido-résistantes. Au contraire, ce sont les bacilles cyanophiles qui ont pris nettement le dessus dans plusieurs ensemencements. On conçoit assez mal qu'en vieillissant, le virus tuberculeux perde ses propriétés acido-résistantes. Aussi n'osons-nous formuler pour l'instant de conclusions fermes sur la valeur de ces germes qui n'arrivent ni à donner des macrocultures, ni à se fixer toujours dans la forme acido-résistante, ni à éveiller l'allergie tuberculinique, ni à créer une tuberculose classique chez le cobaye. Nous poursuivons l'étude de ces bacilles, qui s'ils sont tuberculeux, semblent avoir une parenté assez rapprochée avec ceux qui sont directement issus du virus filtrant.

Lorsque nous nous sommes trouvés en présence du bacille de Koch habituel, il nous a toujours été possible de faire les vérifications que nous estimions nécessaires, car ce furent toujours des cultures abondantes qui se sont toujours présentées sous un aspect constant : teinte blanc-jaunâtre, surface assez grasse, s'étalant en nappes rocailleuses, atteignant les parois des tubes. Typiques à l'examen microscopique ces germes n'ont jamais fait montre de variabilité dans leur acido-résistance et n'ont jamais présenté sur le milieu riche qu'est le Lœwenstein aucune forme d'involution.

Nous signalerons, en terminant, que nous n'avons pas eu l'occasion de discuter l'origine aviaire d'un acido-résistant, ainsi que cela est arrivé à divers auteurs,

VII

PRATIQUE DE LA METHODE DE LÆWENSTEIN

Ainsi que nous venons de le voir, la contamination de la prise de sang est excessivement facile. Or, Læwenstein, tout en recommandant de travailler d'une façon scrupuleusement stérile, ne fournit aucun renseignement sur la façon dont il exécute la préparation du sang.

Voici, dans ses détails pratiques, la manière dont nous avons procédé pour obvier à une trop grande perte de prises de sang mises en culture :

La prise de sang est faite comme pour toute hémoculture. Le sang citraté est « injecté » ensuite dans un tube à essais stérilisé à l'autoclave. On passe avec l'aiguille de la seringue qui vient de servir, à travers le bouchon qui est petit et peu serré.

Au laboratoire, on remplace celui-ci par une couche de gaze stérile, fixée avec un morceau de fil. On peut prélever alors le sang avec une pipette flambée en passant à travers la gaze, sans ouvrir ; de cette même façon, on peut ajouter les acides ou l'eau stérilisée.

Les tubes à centrifugation sont des tubes avec bouchon vissé. En dessous du bouchon, il y a une gaze

fixée comme plus haut, si bien que lorsque l'on retire le capot de métal, le liquide n'entre pas en contact avec les poussières atmosphériques.

On peut se rendre compte que l'on ne se trouve obligé de déboucher qu'au moment même de l'ensemencement. Pour cela, on penche le tube dans la flamme du Bunsen, la gaze brûle et il est inutile de défaire le fil qui la fixe au goulot.

Pour ce qui est des acides, il faut agiter continuellement pour éviter qu'il ne se forme des grumeaux qui protégeraient les souillures du contact stérilisant. Avec l'acide acétique, ne jamais dépasser 5 minutes avec le sulfurique 2 minutes 30 secondes. Ajouter alors le plus possible d'eau distillée pour que, pendant la centrifugation, les bacilles ne soient pas détruits à leur tour.

Quant à la vitesse de centrifugation, il est nécessaire de dépasser largement celle indiquée par Lœwenstein dans sa technique n° 4, pour plusieurs raisons :

1° A 1.500 tours pendant 20 minutes, le culot est mal groupé, friable, dès que l'on touche le tube il se forme des tourbillons. Les Bacilles qui se trouvent dans la couche superficielle des globules sont entraînés dans le plasma ;

2° La densité du sang (1.045 à 1.070) et celle du B. K. (1.017 à 1.070) sont très voisines. Il faut donc une grande vitesse pour l'arracher du liquide et l'envoyer au fond. A une vitesse moindre, il ne faut plus compter que sur le phénomène d'adsorption qui se produit entre les globules et les bacilles ;

3° Plus la centrifugation est rapide, moins elle nécessite de temps; comme, pour une prise de sang, on peut être amené à en faire de 6 à 8, ce n'est pas un facteur à mépriser. Centrifuger jusqu'à ce que le liquide surnageant soit clair et continuer jusqu'à disparition du plus petit louche, ce qui s'obtient en 5 minutes à 3.000 tours.

Pour l'ensemencement, ajouter un centimètre cube d'eau distillée, agiter avec le bout de la pipette, sans la ressortir prélever une partie du liquide brunâtre que forme alors le culot et étaler dans le tube de Legroux.

Paraffiner les tubes dès qu'ils sont prêts, en enfonçant le bouchon d'un centimètre à l'intérieur du goulot et en versant de la paraffine fondue jusqu'à affleurement.

Transporter immédiatement dans une étuve à 37° parfaitement obscure et n'ouvrir que le strict minimum indispensable. Ne jamais se servir des tubes restés exposés à la lumière. Conserver le stock préparé d'avance dans un endroit frais, dans un récipient recouvert de papier noir.

Nous avons utilisé cette manière de procéder après avoir eu des contaminations massives. Il ne nous est plus jamais arrivé depuis, d'avoir des milieux souillés.

VIII

RESULTATS OBTENUS EN FRANCE ET A L'ETRANGER PAR L'EMPLOI DE LA METHODE DE LÆWENSTEIN

De toute la littérature qui existe sur cette question, il résulte que les expérimentateurs peuvent être divisés en trois groupes.

Dans le premier, qui réunit ceux qui ont réussi des pourcentages variant de 25 à 100 %, il faut ranger LÆWENSTEIN et ses collaborateurs.

Dans le deuxième groupe, qui est d'ailleurs celui de la majorité, se trouvent ceux qui n'obtinrent jamais le moindre bacille de Koch.

Dans le troisième, enfin, se rencontrent ceux qui, sans atteindre de gros résultats, obtiennent un taux de cas positifs variant de 1 à 11 %.

PREMIER GROUPE

Les expérimentateurs, ici, ne se contentent pas de trouver le bacille dans des maladies d'étiologie tuberculeuse certaine. Ils le cultivent même dans le rhumatisme articulaire aigu, la démence précoce, la né-

vrite retrobulbaire, la sclérose en plaque, etc... Ce sont eux qui ont combattu pour l'origine bacillaire de ces diverses maladies.

En tête, nous citerons donc les résultats de Lœwenstein. Pour éviter une énumération longue et peut-être fastidieuse, nous nous permettrons d'emprunter à Kurt Meyer le résumé qu'il en donne en tête de son article du « Medizinische Klinik », janvier 1932, n° 4.

Tuberculose pulmonaire	33	% environ
Tuberculose chirurgicale	50	% environ
Tuberculose cutanée :		
au printemps.	80	%
à l'automne	50	%
Sclérose en plaque	42,5	%
Démence précoce	37,5	%

Quant au rhumatisme articulaire aigu, Kurt Meyer écrit là-dessus :

« Weit überraschender sind aber die Angaben Löwensteins und seiner Mitarbeiter, dass auch beim typischen akuten Gelenkrheumatismus nahezu regelmässig Tuberkelbazillen im Blute nachzuweisen sind ! »,

ce qui peut se traduire ainsi :

« Etonnantes au plus haut point sont les allégations de Löwenstein et de ses collaborateurs, puisque ceux-ci trouvent du Bacille tuberculeux jusque dans le rhumatisme articulaire aigu et d'une façon presque régulière ! »

Après Lœwenstein prennent rang :

RUSSEW, qui, dans des formes graves de tuberculeuses chirurgicales obtient	100	%
VON EISELSBERG, dans les cas moyens de tuberculoses chirurgicales	20	%
FISCHER, dans la tuberculose intestinale.	90	%
WESSELY, sur 9 cas de tuberculose laryngée, a eu 7 cas positifs	77,7	%
SAEGLER, chez 51 phtisiques, 11 cas positifs	22	%
E. HAGER	21,2	%
ALVARO URGOITI :		
74 cas de tuberculose articulaire..	35	%
30 cas de tuberculose pulmonaire	33	%
6 cas de tuberculose cutanée	33	%
1 cas d'addisonisme	100	%
5 cas sans diagnostic précis.....	40	%
Moyenne sur 177 cas	plus de	23 %

DEUXIÈME GROUPE

Nous citerons parmi ceux qui n'ont jamais eu que des résultats négatifs, les auteurs suivants :

Professeur MANTEUFFEL, de l'Institut d'Hygiène de Düsseldorf ;

Professeur Lydia RABINOWITCH-KEMPNER et son assistante, Doctoresse SCHACHNOW, de l'Hôpital de Berlin-Moabit,

qui sur :

242 cas de tuberculose pulmonaire,
23 de rhumatisme articulaire aigu,
6 de polyarthrite chronique,
4 d'arthrite déformante,
7 d'érythème noueux,
8 d'asthme,
n'eurent pas de cultures positives.

Ces deux auteurs, d'ailleurs, usent d'un subterfuge pour améliorer leurs résultats en faisant entrer dans leur statistique, les cas positifs obtenus par culture du sang de malades morts de tuberculose. Ils arrivent ainsi à 4 %. Mais d'accord avec M. DUFOURT, nous estimons que le seul résultat qui compte est celui que l'on obtient sur le vivant. Le comportement des germes change aux approches de la mort. Les bactériémies agoniques sont connues et fréquentes. Elles ne représentent qu'une curiosité scientifique.

En dernier lieu, citons le Docteur ERNST KADISCH de l'Hôpital de Berlin-Charlottenbürg et le Docteur NILS LEVIN du Sanatorium de la Ville de Stockholm à Söderby, qui tout comme M^{me} Rabinowitch-Kempner ne découvrirent du bacille de Koch que chez les malades morts.

TROISIÈME GROUPE

Dans celui-ci les pourcentages ne dépassent pas 16,11 %.

On y trouve en particulier :

JONTORFSON qui pour 41 cas de tuberculose pulmonaire, 9 cas de tuberculose chirurgicale, a pour résultat 3 cas positifs, soit 6 %

HÜTTIG qui, sur 64 tuberculoses pulmonaires accuse 7 cas positifs 10,9 %

SAENZ, qui obtient 18 cas positifs sur 300 soit 6 %
et encore sur ces cas il se trouve 11 microcultures.

BESSAU qui, sur 60 cas de tuberculose évolutive, a 2 cas positifs 3,9 %

FERRARI qui, ensemençant le sang de 91 malades :

73 cas de tuberculose pulmonaire grave,

3 cas de tuberculose rénale ;

1 cas de laryngite bacillaire ;

4 cas de tuberculose osseuse ;

5 cas de tuberculose milliaire ;

5 cas d'association tuberculeuse

(poumon et endocarde),

n'obtient que 1 positifs (deux tuberculoses pulmonaires et 2 milliaires), soit 4, 4%.

Ainsi que nous le disions au début de notre thèse, aucun de ces expérimentateurs n'a vu varier la constante de ses résultats. Aussi chaque auteur reste sur ses positions et la question de l'hémoculture tuberculeuse n'est pas près d'être résolue ; du moins tant que les techniques n'auront pas cédé la place à une

autre qui cette fois ralliera les suffrages des Nils Levin, Kadisch, Manteuffel, qui n'ont jamais pu jusqu'ici obtenir du bacille de Koch à partir du sang circulant. Aussi divers auteurs (Abt en particulier) ont cherché à créer une nouvelle méthode qui, paraît-il, serait supérieure à celle de Lœwenstein. Cette question n'ayant été vue par nous que d'une façon trop superficielle, nous nous excuserons de ne pas en donner de détails (Confer. Frieda Abt-bibliographie).

IX

RESULTATS QUE NOUS AVONS OBTENUS OBSERVATIONS

1° — MACROCULTURES

Maintenant que nous venons d'exposer les résultats des expérimentateurs qui, avant nous, travaillèrent et publièrent une étude de la question, il nous faut revenir sur ce que nous avons obtenu.

Sur 67 cas de tuberculoses pulmonaires, nous n'avons eu que deux résultats positifs donnant des cultures visibles à l'œil nu et tuberculisant le cobaye. L'un chez une malade atteinte de Lobite supérieure droite non excavée, l'autre dans une forme de tuberculose diffuse avec caverne droite au niveau du hile.

Ces résultats nous amènent donc à la proportion de 3 % dans les tuberculoses à forme pulmonaire.

Pour tous les autres cas comprenant, deux rhumatismes chroniques, une tuberculose rénale, douze pleurésies sero-fibrineuses et une adénopathie trachéo-bronchique de diagnostic radiographique, nous n'avons eu qu'un seul cas positif (dans un cas de rhumatisme),

Nous arrivons donc pour ce groupe au pourcentage de 5,5 % et à un résultat global de 3,7 %.

Tuberculose pulmonaire (67 cas)	3	%
Autres tuberculoses (18 cas)	5,5	%
Résultat global (85 cas)	3,5	%

PREMIER CAS POSITIF

Début : 7 juillet 1932.

M^{me} Solange L..., 18 ans, ne présentant pas de contamination récente, ayant fait un épisode grippal au mois de janvier dernier suivi d'amaigrissement assez important, avec anorexie. L'examen révèle une lobite supérieure droite non excavée :

Râles sous-crépitaants. Pas de craquements. Pas de signes cavitaires. Ne crache pas.

Un pneumothorax semble indiqué, ainsi que la chrysothérapie.

Le 27 juillet, le pneumothorax a été fait. A la suite de celui-ci, on note un peu de liquide dans le sinus.

Le 23 août 1932, des accidents obligent à cesser les sels d'or. A ce moment, on entend un souffle à droite.

Le 25 août 1932, mêmes signes à l'auscultation, mais bon état général.

Le 25 novembre 1932, la malade a engraisé de 8 kg. Elle crache un peu. Légère obscurité radiographique à droite. Léger souffle à droite.

Le 11 février 1933. La malade part pour Hauteville en bon état, après 7 mois de sanatorium.

Culture du sang :

La prise est faite le matin du 8 août 1932. Température 37°4. — Albumine 0. — B. K. dans les crachats : 0.

On obtient une culture d'acido-résistants en 3 semaines.

Vérification sur le cobaye : allergie positive, puis décès de l'animal, qui présente des lésions tuberculeuses classiques.

En conclusion : jeune malade légèrement fébrile, atteinte d'une bacillose à forme de lobite sans signes cavitaires. Remise en bon état par 7 mois de traitement sanatorial. Stationnaire depuis.

Bacillémique certaine, le 8 juillet 1932.

DEUXIÈME CAS POSITIF

*Tuberculose pulmonaire fibreuse diffuse
avec caverne droite au niveau du hile.*

Lan... Berthe, 27 ans, vient le 5 juillet 1932 de l'Hospice Civil de Villefranche, pour tuberculose ancienne déjà soignée en sanatorium et ayant paru guérie ; hémoptysie moyenne.

Le début de l'affection remonte à 1918. Père et mère morts de tuberculose. En 1928, première rechute avec expectoration sanglante et la malade reste un an en sanatorium.

En 1929, nouvelle hémoptysie, elle retourne au sanatorium.

En 1932, troisième hémoptysie, la malade vient au sanatorium de Sainte-Eugénie.

A l'examen, on note un bon état général, pas de température, tousse un peu et crache, a maigri de 4 kilogs en 3 semaines.

Poumon gauche : râles sous-crépitants dans le 1/3 supérieur du poumon.

Poumon droit : au 1/3 moyen, respiration soufflante. — Expectorations : positives.

Culture pratiquée le 7 juillet 1932 : positive, elle tuberculise le cobaye qui réagit à l'intra-dermo à la tuberculine.

TROISIÈME CAS POSITIF

Rhumatisme tuberculeux (13 avril 1932).

And. Jeanne, 16 ans. A présenté, il y a un an environ, une typhobacillose qui a duré trois semaines. Depuis, a maigri, et a fait diverses localisations articulaires peu bruyantes et traînantes. Les douleurs ont successivement atteint à peu près toutes les grosses articulations, mais sans fluxion aiguë, sans phénomènes importants. On ne note ni rougeur, ni chaleur locale. Les articulations de son poignet droit sont un peu gonflées au moment de l'examen et il existe une certaine limitation du mouvement. La fièvre persiste depuis plusieurs mois, atteignant parfois 38°2 le soir.

Il n'y a aucun signe pulmonaire ou abdominal. Le diagnostic posé est celui de Rhumatisme tuberculeux. Une hémoculture sur milieu de Lœwenstein est posi-

tive. La culture inoculée au cobaye le tuberculise et éveille chez lui l'allergie à la tuberculine.

Nous nous trouvons donc en présence de 3 cas de tuberculose d'intensité moyenne, avec une température basse et des signes réduits au minimum. A côté de ceux-ci nous avons mis en culture des tuberculoses fébriles, graves et évolutives, qui ne nous ont rien donné. Comme le résultat de l'inoculation au cobaye s'est toujours montrée semblable à celui de la culture, il nous semble bien que la bacillemie n'est qu'accidentelle, que les signes généraux présentés par le malade, et l'évolution plus ou moins rapide de la maladie n'influe ni sur son établissement, ni sur sa persistance.

2° MICROCULTURES

Chez 14 tuberculeux pulmonaires de tout degré, aussi bien légers que graves, nous avons obtenu des micro-cultures de bacilles acido-résistant qui, morphologiquement, paraissaient être des bacilles tuberculeux. Nous ne revenons pas ici sur leur valeur que nous avons discutée, et que d'autres auteurs que nous ont interprété d'une façon assez différente.

Si l'on admet qu'il s'agit d'une forme de virus tuberculeux, à comportement biologique spécial, et qui serait issu fraîchement du virus filtrant — ce qui est possible, mais non rigoureusement démontré — nous arriverions à un total de seize cas sur 67 cas de tuberculose pulmonaire, où le virus tuberculeux aurait été présent dans le sang sous une forme variable.

X

RECHERCHE DU BACILLE DE KOCH DANS LES HUMEURS DE L'ORGANISME A L'AIDE DU MILIEU DE LÖEWENSTEIN

Avec le milieu N° 4, nous avons voulu voir si les liquides des épanchements pleuraux, le liquide céphalo-rachidien, les crachats, donneraient une culture rapide de bacilles tuberculeux.

1° Dans les deux premiers cas nous avons procédé à nosensemencements avec la technique suivante :

On fabrique du milieu dans des tubes de Legroux. On fait aseptiquement une ponction de liquide pleural ou céphalo-rachidien.

Celui-ci est directement « injecté » dans le tube, on rebouche et on paraffine.

On incline dans tous les sens pour mouiller toute la surface du milieu, puis on remet doucement à plat.

On place alors à l'étuve obscure et on attend une semaine sans toucher.

Au bout de 8 jours en moyenne, on voit apparaître des points de la taille d'une tête d'épingle, nettement séparés les uns des autres.

A) *Epanchements pleuraux :*

La proportion des ensemencements positifs varie de 70 à 80 %.

Au cours de ces expériences, nous avons incidemment vérifié que les milieux perdaient toute valeur en vieillissant au jour, car une série tentée sur un milieu datant de 3 semaines et qui était resté à la lumière fut complètement négative, tandis qu'avec une série de milieux vieillie à l'obscurité, nous avons obtenu 4 résultats positifs sur 10 et nous en avons conclu que la lumière était, avec la dessiccation, responsable de la non-valeur de certains milieux.

B) *Liquide céphalo-rachidien :*

Dans les cas de méningites tuberculeuses caractérisées, avec la même technique, on obtint des résultats superposables à ceux des pleurésies.

2° *Dans les Expectations :*

La recherche du bacille, dans les crachats, présente plus de difficultés que dans les cas qui précèdent, car on se trouve cette fois en présence d'une flore microbienne complexe.

Il nous faut donc éliminer tous les microbes étrangers, car si le B. K. n'est pas seul en culture, il ne se développe pas, ou fort mal.

Nous voici obligé de nous servir des acides comme pour le sang. Nous méfiant de l'acide sulfurique, nous lui avons préféré d'abord l'acide acétique qui laisse un laps de temps plus grand à l'expérimentateur pour

travailler, avant de tuer les bacilles. Mais nous avons dû abandonner cette technique, car nous avons constaté que le subtilis et certains autres microbes résistaient aussi bien que le bacille de Koch et qu'il était impossible d'obtenir celui-ci à l'état pur.

Force nous fut donc d'en venir à l'acide sulfurique 15 % (1 à 2 cc. pendant 3 minutes), mais les pourcentages s'en ressentirent et ne dépassèrent jamais 40 % de positifs avec des crachats présentant du bacille à l'examen direct, aussi bien qu'avec ceux n'en présentant pas.

De tâtonnements en tâtonnements, nous avons vu que si le temps de contact dépassait 2 minutes 30 secondes, le tube resterait stérile. Ce court laps de temps est d'ailleurs suffisant pour :

- 1° Mélanger l'expectoration et l'acide sulfurique ;
- 2° Agiter avec une œse ;
- 3° Ajouter de l'eau distillée stérilisée qui, diminuant la concentration en acide, empêche que la destruction du Bacille ne soit perpétrée pendant la centrifugation en tubes fermés.

Après celle-ci, qui dure 2 à 3 minutes, on lave bien le culot et on centrifuge de nouveau ; l'acide est éliminé, les non acido-résistants sont détruits et l'on peut ensemercer.

On bouche en paraffine et on porte à l'étuve obscure.

Le développement se produit en une douzaine de jours. La culture débute généralement en nappe, sans colonies séparées. Elle prend de suite une grande extension et non seulement couvre tout le milieu, mais

encore grimpe le long des parois, ainsi que l'ont maintes fois constaté Bingold et Spier.

Nous ne fournissons pas d'observations sur tous ces cas, car cette étude en est restée au stade expérimental. Nous n'avons travaillé que sur des liquides provenant de bacillaires avérés et dont le diagnostic était fermement établi. Cependant les résultats obtenus ont été tels que nous estimons que le milieu de Lœwenstein trouve là une utilisation qui, pour être plus obscure, n'en présente pas moins une très grande utilité pratique.

Le milieu N° 4 constitue incontestablement un milieu d'isolement de tout premier ordre pour le bacille tuberculeux. Et on ne peut qu'être frappé de la facilité avec laquelle on obtient ce germe en ensemençant des liquides pleuraux, rachidiens, ou des crachats, et de la difficulté que l'on éprouve à l'isoler du sang. La raison véritable de cette différence n'est-elle pas précisément et uniquement le fait de la rareté de la bacillémie tuberculeuse sous la forme du bacille adulte acid-résistant de Koch.

XI

REFLEXIONS SUR LA METHODE DE LÆWENSTEIN

Ainsi que nous l'avons montré, le milieu est excellent pour la primiculture bacillaire ; il permet le développement des souches dans 70 à 80 % des cas. Mais ce n'est pas un milieu d'entretien. Rapide au début, la culture ralentit très vite et maintes fois nous avons pu constater que si on repique sur milieu de Petroff, un fragment de culture partie sur milieu de Læwenstein, au bout d'un mois et demi, le repiquage est devenu plus volumineux que la culture-souche. Bien souvent même, on peut noter un arrêt complet dans l'extension de la culture sur milieu de Læwenstein.

En outre, le milieu nécessite un travail d'une stérilité absolue, car il n'est absolument pas sélectif et est très difficile à obtenir stérilisé. Le traitement fractionné qu'on lui fait subir en dessèche une partie.

L'azote qui se dégage du milieu empêche la diffusion de certaines souillures, le tube semble donc bien rester stérile même après plusieurs jours d'étuve, mais lorsqu'on ouvre, l'oxygène atmosphérique entre et les souches de contamination se développent, em-

pêchant la culture du Bacille de Koch d'apparaître. Lorsque cet accident se produit pour un tube, on peut être certain que bon nombre d'autres de la même série seront dans le même cas.

Nous nous sommes rendu compte aussi de la grande variabilité qui existe dans le temps que met le Bacille de Koch à pousser. En effet si, de règle la première colonie apparaît entre le 40 et le 50^e jour, elle peut mettre quelquefois plusieurs mois.

En tout cas, le temps moyen d'apparition de colonies dans une culture de sang est notablement supérieure à celui qu'il faut pour obtenir le renseignement par l'Intradermo-Réaction à la Tuberculine chez les cobayes inoculés avec le sang.

On a fait l'objection au cobaye d'être shocké et souvent tué par l'injection de sang de tuberculeux. Nous n'avons jamais observé pareil accident et il nous est impossible de discuter de cette éventualité. Mais nous avons très souvent le résultat du cobaye depuis plus de 20 jours quand la première colonie apparaissait. D'autre part, s'il nous est arrivé de ne pas avoir de culture avec du sang souillé expérimentalement, nous n'avons jamais eu de cobaye qui n'ait pas présenté une intradermo-réaction positive lorsqu'il était inoculé avec le même mélange. Il semble bien que l'inoculation du cobaye soit supérieure à la mise en culture.

Dans les cas de pleurésies sero-fibrineuses, là où nous avons obtenu 80 % de résultats positifs, le cobaye en a donné 100 %.

Si, par contre, on considère comme d'authentiques

bacilles tuberculeux les germes plus ou moins acido-résistants obtenus assez fréquemment en micro-culture, à la suite d'ensemencement de sang, il faut reconnaître que la méthode de Lœwenstein donne des résultats supérieurs à l'inoculation au cobaye.

En effet, dans les cas où nous avons eu des micro-cultures, les cobayes témoins inoculés avec le sang des malades n'ont présenté ni lésion, ni allergie tuberculinique appréciable, avec les dilutions usuelles de tuberculine (1/50^e). D'autre part la recherche des bacilles dans les ganglions que nous n'avons pratiqué que dans quelques cas, ne nous a pas donné de résultats constants.

En somme, si la bacillémie tuberculeuse existe, si elle est même assez fréquente, ce n'est pas, pour reprendre l'expression de nos maîtres, MM. F. Arloing et A. Dufourt, sous la forme du bacille adulte acido-résistant de Koch qu'elle se produit communément. (1)

(1) Voir Septicémie tuberculeuse — Rapport du Congrès de Médecine.
Paris 1927.

CONCLUSIONS

Notre étude expérimentale et clinique de la méthode de Lœwenstein, en dehors de 87 cas de septicémies tuberculeuse expérimentales, a porté sur 67 cas de tuberculose pulmonaire, 1 cas d'adénopathie trachéo-bronchique, 2 cas de rhumatisme tuberculeux, 12 cas de pleurésie séro-fibrineuse.

I. — Nous avons obtenu les résultats suivants :

Pour les cultures de sang :

3,30 % de cas positifs indiscutables avec présence de macroculture et lésions nodulaires contrôlées sur le cobaye.

20 % de cas présentant des bacilles acido-résistants non tuberculigènes pour le cobaye, n'éveillant pas l'allergie tuberculeuse, et ne donnant que des microcultures.

Pour les cultures de liquides organiques tels que : liquide céphalo-rachidien, pleuro-pulmonaires ou expectoration :

70 % des cas positifs (macrocultures).

II. — Nous en concluons que, considéré seul :

- 1° Le milieu de Lœwenstein tel qu'il est actuellement constitué est supérieur aux milieux de Petroff et de Petragani pour la primiculture bacillaire.
- 2° Avec les humeurs sans hémoglobine ne nécessitant pas de manipulations spéciales il donne en une quinzaine de jours des résultats qui dans l'ensemble sont satisfaisants quoique inférieurs à l'inoculation du cobaye.
- 3° Par contre avec le sang le taux des résultats positifs se révèle bien faible si l'on ne considère que les macrocultures.

Néanmoins, nous ne pensons pas que la méthode de Lœwenstein, au stade où elle est parvenue maintenant puisse être utilisée dans la clinique courante car :

- 1° Les risques d'erreurs sont tels que la statistique varie selon les auteurs de 0 à 100 %.
- 2° La technique est d'un maniement délicat et fort long ; il faut plus de deux heures pour préparer une prise de sang.
- 3° La culture peut mettre 90 jours et plus, avant de pousser.

En somme le Milieu de Lœwenstein est susceptible de nombreuses et fécondes utilisations dans le domaine bactériologique, mais la méthode en ce qui concerne des hémocultures prête encore à des confusions possibles et à des discussions qui ne sont point près d'être closes.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE
ARLOING.

Vu :
LE DOYEN,
Jean LEPINE.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 18 Octobre 1933.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ.

Pour le Recteur et par délégation :

LE VICE-PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
JOSSERAND.

BIBLIOGRAPHIE

ABT (F.). — Über den Kulturellen Nachweis der Tuberkelbazillen, im Blute. Untersuchungen an Meerschweinchen und an Menschen.
Schweiz. Med. Wochschrft.
Zürich, 61, 1083-1085 (7-11-31).

AKOPAVA. — Cultivation of tubercle bacillus from exsudats by Löwenstein-Hohn methodes in tuberculosis of bones and joints.
Ortopedia i travmatologia.
Kharkov, 5, 52-54 (1931).

AMERSBACH (K.), LÖWFENSTEIN (W.) et LÖWFENSTEIN (E.). — Über symptomloses Vorkommen von Tuberkelbazillen im Tonsillengewebe bei rezidivierenden Gelenkrheumatismus und bei Neuritis retrobulbaris.
Münch. med. Wochschrft.
München, 78, 1078-1080 (26-6-31).

ARLOING (F.) et DUFOURT (A.). — Culture du bacille de Koch dans l'eau ordinaire et dans l'eau distillée.
Comptes-Rendus de la Société de Biologie.
Paris, 98, 37-39 (13-1-28).

ARMAND-DELILLE, LESTOQUOY (C.), MONCEAU (Y.). — Tuberculose pulmonaire du nourrisson simulant une bronchopneumonie, Bacillémie constatée par la méthode de Löwenstein.
Bull. et Mémoire de la Soc. Méd. des Hôpitaux.
Paris, 48, 637-643 (16-5-32).

- BENEDETTI et GALLOTTI. — Il methodo di Lœwenstein per la cultura del bacillo di Koch dal sangue.
Riv. di path. e clinica della Tuberculosis.
Bologna, 6, 424-427 (31-5-32).
- BESSAU. — Zum Tüberkelbazillennachweis im Blüte bei Tüberkulose und andere Erkrankungen.
Medizinische Klinik.
Berlin, N° 4, 110 (22-1-32).
- BIANCHI (L.). — Sul metodo di Lœwenstein per la cultura del bacillo tubercolare del sangue.
Boll. della Soc. Med. Chirurgica.
Pavia, 46, 279-308 (1932).
- BINGOLD (K.). — Direkte Züchtung von Tüberkelbazillen aus dem strömenden Blut.
Beiträge zur Kl. der Tüb. und Spez. Tüb. forsch.
Berlin, 68, 734-738 (1928).
- BINGOLD et SPIER (W.). — Zur Frage der direkten Züchtung der Tüberkelbazillen aus dem Blut.
Münch. med. Wchschrift.
München, 78, 1899-1901 (6-11-31).
- BUSSON (B.). — Der Tüberkelbazillennachweis aus dem Blut durch Tierversuch und Kultúrverfahren, vorläufige Mitteilung.
Wien. Kl. Wchschrift.
Wien, 44, 1431-1434 (13-11-31).
- Der direkte Nachweis der Tüberkelbazillen im Blutsedimente durch die Hämolysé.
Med. Klinik.
Berlin, 28, 758-759 (25-5-32).
- Die Fehlerquellen bei der Untersuchung des Blütes auf Tüberkelbazillen und ihre Vermeldung.
Deutsche Med. Wchschrift.
Leipzig, 58, 888-889 (3-6-32).
- Die Hämolysé zum Nachweis von Mikroorganismen, insbesondere der Tüberkelbazillen im strömenden Blut.
Zentralblatt f. Bakt. Parasitenk. und Infekt.
Jena (Abt 1), 124, 555-559 (10-6-32).

- CASTRO (DE). — L'alvéolite miliatica ematogena sperimentale. Contributo all' istogenesi del tubercolo miliare del pulmone.
Arch. di path. e. clinica medica.
Bologna, 11, 219-230 (11-31).
- COHN. — Confer Bessaù.
- CORELLI (F.). — Ricerche sulla coltivabilità del bacillo di Koch dal sangue di tubercolosi.
Minerva Medica.
Torino, 1, 208-209 (11-2-32).
- DETRE (L.). — Detection of tubercle bacilli in circulating blood.
Med. Ann. of the dist. of Columbia. ..
Washington, 1, 23-28 (2-32).
- DETLING (H.). — Untersuchungen über den Nachweis von Tuberkelbazillen im strömenden Blut nach Löwenstein.
Münch. med. Wochschrft.
München, 79, 540 (1^{er}-4-32).
- DIMITZA (A.). — Der Nachweis der Tuberkulose durch die Kultur der Tuberkelbazillen.
Schw. med. Wchschrift.
Zürich, 58, 1285-1287 (29-12-28).
- DOMINGO (P.). — Sur la méthode de Löwenstein dans la bacillémie tuberculeuse.
Comptes-rendus de la Société de Biologie.
Paris, 108, 619-620 (13-11-31).
- EDERLE et KRIEG (H.). — Zur Frage der Tuberkelbazillenzüchtung aus dem Blute nach E. Löwenstein.
Deut. med. Wchschrift.
Leipzig, 58, 7-8 (1^{er}-1-32).
- ENGEL (W.). — Zum Kulturellen Nachweis von Tuberkelbazillen.
Deut. Med. Wchschrift.
Leipzig, 53, 1001 (10-6-27).
- Confer Löwenstein E. *Med. Kl.*, N° 8,

FISCHER (A.). — Ergebnisse der Züchtung von Tuberkelbazillen aus dem Blut nach Löwenstein.
Deut. Med. Wchschrift.
Leipzig, 58, 331-334 (1930).

FISCHER et UGOITI (A.). — Die Klinische Bedeutung der Tuberkelbazillenreinkultur nach Löwenstein.
Beitrage z. Kl. der Tüb. und spez. Tüb. forsch.
Berlin, 76, 484-488 (1931).

— Diagnostico bacteriologico de la tuberculosis por el cultivo del bacillo según Löwenstein.
Arch. de med. chirurg. y especialidades.
Madrid, 34, 157-161 (21-2-31).

FAVERO (E.). — Ricerche sull' Isolamento culturale del bacillo di Koch dal sangue circolante dei Tubercolosi.
Atti del Congresso Nazionale di Microb.
Milano, 274-276 (1931).

— Esperimenti sul procedimento emoculturale di Löwenstein nel corso dell'infezione tubercolare.
Giornale di fisiologia.
38-44 (29-2-32).

FILIPPINI (A.). — La bacillemia tubercolare e la ricerche di Löwenstein.
Annali d'Igiene.
Roma, 42, 162-167 (3-32).

GIANNETTI (O.). — Sul metodo di Löwenstein per la ricerca della bacillemia tubercolare.
Boll. dell'Institut. sieroterap., Milan.
Milano, 10, 446-450 (731).

GIESZCZYKIEWICZ (H.) et WROBLEWSKY (V.). — Influence de la réaction du milieu sur le développement du B. K.
Compt.-rend. de la Soc. de biol.
Paris, 96, 337-339 (11-2-27).

GOLIBORSKA (T.). — Löwenstein theory of présence of tubercle bacilli in blood.
Warszawskie czasopismo lekarskie, wychodzi co czwartek.
Warszawa, 9, 294-300 (31-3-32).

GRIMM (O.). — Über den Kulturellen Nachweis von Tuberkelbazillen im Blut und Gewebe bei Hauttuberkulosen.

Dermat. Wchschrft.

Leipzig, 94, 584-585 (23-4-32).

HAEGER (E.). — Cfer Læwenstein E. *Med. Kl.* N° 8.

HORSTER (H.). — Bacteriologische und serologische Untersuchungen bei Tuberkulose, und « rheumatischen » Erkrankungen.

Kl. Wchschrft.

Berlin, 10, 2389-2392 (26-12-31).

IBUCHI (T.). — New method of culturing tubercle bacilli from flowing blood.

The Tokoku Journal of Exp. med.

Sendai, 17, 168-173 (3-31).

JUDENITCH (V.). — Séparating pure culture of tubercle bacilli by Læwenstein-Sumyoshi method.

Vrachebnaya gazeta. Klinicheskaya bitovaya gazeta dlya vrachei.

Leningrad, 32, 178-181 (15-2-28).

JONTOSHOHN (K.). — Versuche zur Züchtung von Tuberkelbazillen aus dem Blut bei Tuberkulosen.

Kl. Wchschrft.

Berlin, 10, 35-41 (1931).

KADISCH (E.). — Confer Bessaü.

KALLOS (P.). — Über die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem Blute nach Læwenstein.

Deut. Med. Wchschrift.

Leipzig, 64, 371-379 (1932).

— Weitere Züchtungsversuche von Tuberkelbazillen aus dem Blute nach Læwenstein bei Hauttuberkulosen.

Dermat. Wochschrift.

Leipzig, 94, 861-863 (18-6-32).

KISSMEYER et LÆWENSTEIN (E.). — Über Tuberkelbazillämie bei Hauttuberkulosen.

Münch. Med. Wchschrift.

München, 79, 626-627 (15-4-32).

- KOCH (F.) (Tübingen). — Tuberkelbazillämie bei Hauttuberkulosen ?
Deut. Med. Wchschrift.
Leipzig, 58, 90-91 (15-1-32).
- KONRAD (J.). — Über den Tuberkelbazillennachweis aus dem strömenden Blute, bei Hauterkrankungen.
Kl. Wchschrift.
Berlin, 10, 2280-2289 (1931).
- LANG (C.-A.). — Zum Tuberkelbazillennachweis im Blute bei Tuberkulose und andere Erkrankungen.
Med. Kl.
Berlin, 8, 290 (19-2-32).
- LEVIN (Nils). — Confer Lang. C. A.
— Attempt to demonstrate tubercle bacilli in blood according to Løwenstein.
Nordisk. Medicinsk Tidskrift.
Stockholm, 4, 496-500 (16-6-32).
- LICHTENSTERN (S.). — Zur Frage der Reinzüchtung der Tuberkelbazillen.
Zentr. f. Bakt. Parasit. u. Infekt.
Jena, 108, 239-241 (21-8-28).
- LINNIKOVA (M.-A.). — Identification of tubercle bacilli by Løwentein-Sumyoshi method with Hohn modification.
Archiv. biolog. nauk. izdavy. Imp. Inst. ekop. med. v Leningrad.
Moskwa, 267-272 (1929).
- LOPEZ VALLEJO (J.). — Un nuevo medio de cultivo sintético para el desarrollo del bacillo tuberculoso.
Medicina.
Mexico, 11, 591-598 (10-6-31).
- LÖWENSTEIN (Ernst).
— Beitrag zur Leistungsfähigkeit der direkten Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem infektiösen Material, mit einem Beitrag zur Geflügeltuberkulose in Menschen.
Wiener Kl. Wchschrift.
Wien, 37, 231-233 (1924).

- Reinkülturmethodik,
W. Kl. Wochnschrift.
Wien, 77, 767 (4-6-27).
- Die Methodik der Reinkultur von Tüberkelbazillen aus dem Blute.
Deut. Med. Wchschrift.
Leipzig, 56, 1010 (13-6-30).
- Die Klinische Bedeutung der Tüberkelbazillämie.
Münch. Med. Wchschrift.
München, 77, 1662-1665 (26-8-30).
- Das Vorkommen der Tüberkelbazillämie bei verschiedenen Krankheiten.
Münch. Med. Wchschrift.
München, 78, 261-263 (13-2-31).
- Tüberkelbazillämie bei Erkrankungen des Zentralnervensystems.
Münch. Med. Wchschrift.
München, 1080-1082 (26-6-31) 78.
- Die Tuberkulose als Allgemeininfektion (Auf Grund von 5000 Blutkulturen).
Med. Kl.
Berlin, 27, 1669-1670 (12-11-31).
- Vergleich der Leistungsfähigkeit von Tierversuch und Kulturverfahren.
Z. f. Bakt. Paras. und Infekt. (Abt. I).
Jena, 123, 510-520 (3-2-32).
- Zum Tüberkelbazillennachweis im Blute bei Tuberkulose und andere Erkrankungen.
Med. Kl.
Berlin, 8, 258 (19-2-32).
- La Tuberculose-bacillemic vue par un bactériologiste.
Le Monde Médical.
Paris (15-1-33).

LÆWENSTEIN (E.), FANJUL (L.) et GERZNER (L.). — Vergleich zwischen den Resultaten der Tuberkelbazillenkultur aus dem Beute und der direkten Färbung des Blutsedimentes.

Med. Kl.

Berlin, 28, 1106-1107 (5-8-32).

LÆWENSTEIN (E.) et RUSSEW. — Über Reinzüchtung von Tuberkelbazillen aus dem Blute.

W. Kl. Wochenschrift.

Wien, 43, 294 (6-3-30).

LÆWENSTEIN (W.), STRASSER (A.) et WEISSMANN (A.). — Über Beziehungen von Gelenkreumatismus und Tuberkulose.

Wiener Archiv. f. inn. Med.

Wien, 22, 229-254 (1932).

MACH (R.-S.). — La bacillémie tuberculeuse et les travaux de Læwenstein.

Revue Méd. de la Suisse romande.

Lausanne, 51, 787-796 (25-11-31).

MACH (R.-S.) et MACH (E.). — Hémoculture de bacilles acido-résistants par la méthode de Læwenstein.

Compte rendu de la Soc. de Biologie.

Paris, 109, 722-724 (11-3-32).

MANDEL (J.-V.). — Untersuchungen über die Dauerheilung nach Operation wegen Nierentuberkulosen. Bericht über die Wertigkeit des zu diesen Zwecke angewandten Reinzüchtungsverfahrens der Tuberkelbazillen nach Læwenstein.

Z. f. urol. Chir.

Berlin, 22, 39-64 (1927).

MANTEUFFEL (P.) et KOTTMANN (E.). — Untersuchungen über die diagnostische Bewertung der Blütkultur bei experimenteller Kaninchentuberkulose.

Zschrft. f. Immün. und Exp. Therapie.

Jena, 74, 25-30 (1932).

MATTHIASEN (A.-F.). — Resultaten mit die Løwensteinschen
Blüt kulturmethode bei verschiedenen formen der
Hauttüberkùlose.
W. Kl. Wochnschrift.
Wien, 45, 719-720 (3-6-32).

MATRAS (A.). — Die Tùberkelbazillenkultùr nach Løwenstein
aus dem Gewebe tùberkùloser Hàuiterkrankungen.
W. Kl. Wochnschrift.
Wien, 45, 524-525 (22-4-32).

MEYER (F.) et SCHAEDE (G.) (Neùhaldensleben). — Untersù-
chungen auf Tùberkelbazillen im Blùte bei Schizo-
phrenie.
Psych. neurol. Woch.
Halle, 33, 572-574 (28-11-32).

MEYER (K.). — Cfr. Bessau.

MISHULOW (L.) et PARK (W.-H.). -- Tubercle bacilli in blood
stream of rabbits during course of infection.
Journ. of prev. med.
Chicago, 6, 95-99 (3-32).

MUGGIA (A.). — Failure to cultivate tubercle bacilli from blood
in 9 cases using Løwenstein's method.
Soc. intern. di Microb.
Boll. della Sez. ital.
Milano 3, 181-183 (5-31).

— dito

Atti del Congr. Naz. di Microb.
Milano, 277 (1931).

NANU-MUSCEL, JONNESCO et STEFANESCO (C.). --- Contribution
au diagnostic de la bacillémie tuberculeuse par l'hé-
moculture selon la méthode de Løwenstein.
Presse Médicale.
Paris, 39, 1805-1806 (9-12-31).

ŒCONOMOPOULO (N.-B.), PAPANIKOLAOU (B.) et JOANNIDES. —
Versùche betrefend Tùberkelbacillàmie bei Lùngen-
tùberkùlosen nach dem Løwensteinschen Zùchtùng-
verfahren.
Z. für Tbk.
Leipzig, 63, 340-342 (1932).

- OPITZ (H.). — Zum Kulturellen Nachweis der Tuberkelbazillämie im strömenden Blut.
Deut. Med. Wchschrift.
Leipzig, 58, 404-406 (11-2-32).
- PHILIBERT (A.) et MACH (R.-S.). — Etude d'une culture d'un bacille tuberculeux isolé du sang par la méthode de Löwenstein.
Compte rendus de la Soc. de Biol.
Paris, 109, 720-722 (11-3-32).
- PHILIBERT (A.). — La bacillémie tuberculeuse et la culture du sang.
Gazette des Hôpitaux.
Paris, 105, 701-703 (11-5-32).
- POLLAK (O.-J.). — Züchtung von Tuberkelbazillen.
Med. Kl.
Berlin, 27, 1146-1150 (31-7-31).
- POPPER (H.), BODART (F.) et SCHINDLER (W.). — Zum Kenntnis der Tuberkelbazillenzüchtung aus dem Blute.
W. Kl. Wochnschrift.
Wien, 44, 1494-1497 (27-11-31).
- POPPER (L.). — Die Klinische Bedeutung der Tuberkelbazillennachweis im Blut.
Deut. Med. Wchschrift.
Leipzig, 58, 404-406, (11-3-32).
- RABINOWITCH-KEMPNER (L.). — Confer Bessaü.
- RICHTER. — Erfahrungen über Tuberkelbazillenzüchtung aus Blut und Späten.
Beitr. z. Klin. d. Tbk.
Berlin, 79, 110-112 (1931).
- REITTER (C.) et LÖWENSTEIN. — Akuter Gelenkrheumatismus und Tuberkelbazillämie.
Münch. Med. Wochschrft.
München, 78, 2033-2034 (27-11-31).
- Über den pathogenetischen Zusammenhang des akuten Gelenkrheumatismus mit der Tuberkelbazillämie.
W. Kl. Wochnschrift.
Wien, 45, 293-298 (4-3-32).

- ROSSO (del) (R.-M.). — La Ricerca della bacillemia tubercolare con il Methodo de Lœwenstein.
Gior. di batteriol. e immunol.
8, 164-175 (2-32).
- RUMPT (E.). — Tuberkelbacillen im Blut.
Beitr. z. Klin. d. Tbk.
Berlin, 76, 165-173 (1930).
- RUSSEW (R.). — Über Septikämie bei Tuberkulose mit besonderer Berücksichtigung der Reinzüchtung von Tuberkelbazillen aus dem Blute.
Wien. Archiv. f. inn. Med.
Wien, 20, 231-278 (3-6-30).
- SÆGLER. — Confer Werner Engel.
- SAENZ (A.). — Valeur diagnostique de la méthode de Lœwenstein.
Comptes-rendus de la Soc. de biol.
Paris, 107, 1455-1457 (18-9-31).
- L'Hémoculture du B. K. par la méthode de Lœwenstein.
La Médecine.
Paris, 13, 346-358 (Mai 1932).
- SAENZ et GUERRA. — Isolement d'un bacille du type aviaire du sang, et des lésions d'un tuberculeux lupique.
Compte-rend. de la Soc. de biol.
Paris, 108, 715-717 (20-11-32).
- SAUER (W.). — Bedeutung des Kulturellen Nachweises von Tuberkelbazillen für die Diagnostik tuberkulöser Erkrankungen in Heil- und Pflegeanstalten.
Allg. Ztschrift f. Psychiat.
Berlin, 92, 270-276 (20-12-29).
- SCHREINER. — Zur Frage der Züchtung von Tuberkelbazillen aus dem Blut bei tuberkulösen Hautkrankheiten.
Wien. Klin. Wchschrift.
Wien, 45, 488-490 (15-4-32).
- SCHWABACHER (H.-M.). — Blood culture in Tuberculosis.
The Lancet.
London-New-York, 1, 1130-1131 (23-5-31).

- SERGEANT (E.). — La Bacillémie tuberculeuse et les bacilles de Koch « de sortie », vus par un Clinicien.
Monde Médical.
Paris, 1 (octobre 32).
- SIGON (M.). — La presenza del bacillo di Koch nella poliartrite acuta reumatica.
Minerva Medica.
Torino, 2, 597-601 (3-11-31).
- SUMYOSHI (Y.). — Beitrag zur Reinzüchtung der Tuberkelbazillen aus dem Spütum.
Z. für Tbk.
Leipzig, 39, 333-338 (1923).
- TROISIÈRE et DE SANCTIS MONALDI (T.). — Le bacille de Koch, virus de sortie.
Lotta c. la Tuberc.
Roma, 3, 471-474 (32).
Bull. acad. de méd.
Paris, 107, 628 (3 mai 32).
- UNVERRICHT et DOSQUET (S.). — Die direkte Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem Blut.
Z. für Tbk.
Leipzig, 63, 338-340 (1932).
- URBANEK (J.) et MELLER (R.). — Tuberkelbazillennachweis im Blute augenkranker Menschen.
Z. f. Aug. heil.
Leipzig, 77, 17-36 (avril 1932).
- URGOITI (A.). — Contribucion al estudio de la bacilemia tuberculosa por el hemocultivo en las tuberculosis osteoarticulares.
Arch. de med., cir., y especial.
Madrid, 34, 977-986 (24-10-31).
- VAN RIEMDIJK. — Über den Wert des Löwensteinschen Nährbodens anderen Tuberkelbazillennährboden gegenüber und über das Tiefenwachstum des Tuberkelbacillus.
Z. f. Bakt. Paras. und Infekt. (Abt. I).
Jena, 124, 394-402 (6-5-1932).

WALLGREN (A.). — Einige Untersuchungen über Tüberkelbazillämie ad modum Löwenstein.

Arch. f. Kinderh.

95, 297-300 (5-2-32).

WALTER (L.) et HÆRING (F.-O.). — Zur frage des Tüberkelbazillennachweises im Blüt nach Löwenstein.

Med. Kl.

Berlin, 28, 688-689 (13-5-32).

WOLF. — Experimenteller Beitrag zur frage der Tüberkulöser Bazillämie.

Schw. med. Wchschrift.

Lausanne, 59, 742-744 (20-6-29).

ZANELLI (C.). — Bacillemia Tubercolare.

Lotta c. la tuberc.

Roma, 3, 403-414 (avri! 1932).

TABLE DES MATIERES

	<i>Pages</i>
Généralités	9
Plan	11
Des différentes méthodes de Lœwenstein	13
Vérification expérimentale du milieu de Lœwenstein.	23
Contamination des cultures par les microbes banaux non acido-résistants	29
Valeur et signification des bacilles acido-résistants constatés dans une culture	31
Pratique de la méthode de Lœwenstein	37
Résultats obtenus en France et à l'étranger par l'emploi de la méthode de Lœwenstein	41
Résultats que nous avons obtenus. — Observations	47
Recherche du bacille de Koch dans les humeurs de l'organisme à l'aide du milieu de Lœwenstein	53
Réflexion sur la méthode de Lœwenstein	57
Conclusions	61
Bibliographie	65
